黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒的研发

宋青龙[1,2]　李成洪[3]　傅　巍[1]　唐红梅[3]　杨春柳[1]　谯仕彦[2]

（1.北京龙科方舟生物工程技术有限公司，北京 100193；2.国家饲料工程技术研究中心，北京 100193；3.重庆市畜牧科学院，重庆 402460）

摘　要：本研究旨在应用胶体金免疫层析技术，结合胶体金定量读数仪研制出一种快速定量检测谷物和饲料中黄曲霉毒素 B_1 含量的胶体金快速定量检测试剂盒。该试剂盒以胶体金标记高特异性单抗，与偶联抗原进行正交试验，确定适宜条件，同时通过与对照线和试验线的颜色对比，应用胶体金定量读数仪，对样本中黄曲霉毒素 B_1 含量进行定量检测。结果表明，黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒检测方法简便、快速、稳定性好，且可得出具体数据，避免了人肉眼观察的差异；与常见霉菌毒素无交叉反应，样品检测结果与高效液相色谱法检测结果的相对误差在 20%以内。由此可见，本试验研制的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒可用于谷物和饲料中黄曲霉毒素 B_1 含量的快速定量检测。

关键词：黄曲霉毒素 B_1；胶体金；试纸条

中图分类号：S816.17

黄曲霉毒素 B_1（aflatoxin B_1，AFB_1）主要是由黄曲霉菌和寄生曲霉菌分泌的次级代谢产物，其产毒菌株适宜在温暖、潮湿的条件下生长，广泛存在于花生、玉米、小麦和稻米等农产品中，对人及动物肝脏组织有破坏作用，严重时可导致肝癌甚至死亡，由于其高致癌性，被国际癌症研究机构认为是一类人类致癌物[1]。黄曲霉毒素 B_1 危害主要是造成动物的采食量、体增重和饲料转化率降低，繁殖性能紊乱，免疫功能降低等。

黄曲霉毒素 B_1 的主要检测方法有薄层色谱法、高效液相色谱法（high performance liquid chromatography,HPLC）、质谱联用法、酶联免疫吸附法（enzyme linked immunosorbent assay,ELISA）及胶体金免疫层析法。薄层色谱法在处理样品时工作量大，检测过程中需接触标准品，危害到操作人员的健康。HPLC 和质谱联用法所需检测仪器价格昂贵，需要专业技术人员操作，且样品前处理复杂，不便于推广应用，也不适合大批量样品检测。ELISA 和胶体金免疫层析法操作简便、快速、灵敏度高，可进行定量和半定量检测，且无需贵重仪

收稿日期：2017-04-20
基金项目：重庆市农发资金项目(16411)
作者简介：宋青龙（1974-），男，吉林东丰人，硕士，从事生物饲料添加剂、饲料及原料检测等研究。E-mail：sql19972002@126.com

器设备，因此近年来发展迅速[2]。近年来，发展了多种针对黄曲霉毒素的免疫检测方法[3-6]。其中胶体金免疫层析法检测谷物中的黄曲霉毒素 B_1 已有了广泛的应用，但其只能做定性检测[7-10]。本试验旨在胶体金免疫层析法的基础上，配合定量读数仪，研发出黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒，对谷物和饲料中的黄曲霉毒素 B_1 含量进行快速定量检测，以期为饲料中黄曲霉毒素 B_1 含量的检测提供准确、快速、简便的方法。

1 材料与方法

1.1 试验材料和仪器设备

试验材料包括：黄曲霉毒素 B_1、玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、伏马毒素、赭曲霉毒素、T-2 毒素标准品（Sigma 公司，美国）；氯金酸（$HAuCl_4·4H_2O$，国药集团化学试剂有限公司）；黄曲霉毒素 B_1 偶联卵清蛋白（AFB_1-OVA，北京龙科方舟生物工程技术有限公司）；黄曲霉毒素 B_1 单克隆抗体（AFB_1-Ab，北京龙科方舟生物工程技术有限公司）；羊抗鼠免疫球蛋白 G（IgG，上海金标生物科技有限公司）；硝酸纤维素膜（Millipore 公司，美国）；胶体金结合垫、样品垫、吸水纸（上海金标生物科技有限公司）；黄曲霉毒素 B_1 免疫亲和层析柱（北京龙科方舟生物工程技术有限公司）。

仪器设备包括：三维平面点膜喷金仪 HM3030（上海金标生物科技有限公司）；微电脑自动斩切机 ZQ2000（上海金标生物科技有限公司）；高速冷冻离心机 H-2050R（长沙湘仪离心机仪器有限公司）；紫外连续扫描分光光度计（Thermo 公司，美国）；数显磁力搅拌电热套（天津市莱玻特瑞仪器设备有限公司）；电热恒温鼓风干燥箱（上海一恒科学仪器有限公司）；胶体金定量读数仪（上海捷浩科学仪器有限公司）；恒温孵育器（杭州奥盛科技有限公司）。

1.2 试验方法

1.2.1 胶体金溶液的制备

在圆底烧瓶中加入 1 L 超纯水加热至煮沸，加入 10 mL 1%氯金酸溶液，2 min 后加入 12 mL 1%柠檬酸三钠溶液，此时溶液颜色由黑色逐渐变为酒红色。继续煮沸 15 min 后停止加热，冷却至室温，4 ℃贮存。紫外扫描检测胶体金溶液质量。

1.2.2 抗体最佳标记 pH 的确定

取 1 mL 胶体金溶液，分别加入 1、3、5、8、10、15、20 μL 碳酸钾（K_2CO_3）溶液调

节 pH，黄曲霉毒素 B_1 单抗按照 5 μg/mL 标记，终浓度 1% BSA 封闭，4 000 r/min 离心 5 min 去上清液后用磷酸缓冲盐溶液（PBS）洗涤 1 次，再次 4 000 r/min 离心 5 min 后用 300 μL 悬浮液悬浮，按 10 μL/cm 喷金量将标记好的抗体包被在胶体金结合垫上，37 ℃干燥 2 h。

黄曲霉毒素 B_1 偶联抗原和羊抗鼠 IgG 均分别稀释到 0.5 mg/mL，按 1 μL/cm 划膜量包被到硝酸纤维素膜上，37 ℃干燥 1 h。组装大板、切条，用 PBS 溶液检测，观察检测线（T 线）显色情况，选择没有死金的显色最强的缓冲液用量作为最佳标记 pH。

1.2.3　抗体最佳标记浓度与抗原最佳包被浓度的确定

用确定的最佳标记 pH，单抗分别按照 2、3、4、5 μg/mL 标记，偶联抗原分别按照 0.1、0.2、0.3、0.4 mg/mL 包被在 T 线位置，进行正交试验，检测黄曲霉毒素 B_1 标准品（浓度为 0、2、5、10、20、50 μg/kg）浓度，选择 0 μg/kg 显色明显且灵敏度最高的组合为最佳条件。在此条件下，羊抗鼠 IgG 分别按照 0.05、0.10、0.15、0.20 mg/mL 包被在对照线（C 线）位置，检测黄曲霉毒素 B_1 标准品（浓度为 10 μg/kg）浓度，选择 C 线显色强度与 T 线相当的包被浓度为最佳条件。

1.2.4　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒检测卡的组装

将包被有黄曲霉毒素 B_1 偶联抗原和羊抗鼠 IgG 的硝酸纤维素膜、喷有黄曲霉毒素 B_1 单抗偶联胶体金的聚酯垫、玻璃纤维滤纸与吸水纸组装在聚氯乙烯（PVC）底板上，用切条机切成 3.88 mm 宽的试纸条，装入检测卡壳中，即为最终的检测卡。

1.2.5　样品前处理方法的确定

将不含黄曲霉毒素 B_1 的玉米样品粉碎后，分别称取 4 份，每份各 1 g，向其中添加黄曲霉毒素 B_1 标准品溶液，使其终浓度为 10 μg/kg。每份样本分别加入 5、6、7、8 mL 样品提取液，然后用稀释液稀释 6 倍，用制备的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒检测卡检测，确定提取液与稀释液用量。

1.2.6　标准曲线的建立

配制一系列不同浓度（0、10、20、30、40、50 和 60 μg/kg）的黄曲霉毒素 B_1 标准品，按确定的提取与稀释比例提取稀释后，分别取 100 μL 加到检测卡的加样孔中，恒温孵育器 37 ℃反应 10 min，放入胶体金定量读数仪中，读取 T 线与 C 线的峰面积比值（T/C 值），每个浓度重复检测 5 次，计算平均值。以 T/C 值的平均值为横坐标、黄曲霉毒素 B_1 标准品浓

度为纵坐标，制作标准曲线。

1.2.7　添加回收试验

分别取玉米和玉米干酒糟及其可溶物（DDGS）样本，检测其中黄曲霉毒素 B_1 含量，然后向其中添加不同浓度（0、10、20 和 50 μg/kg）的黄曲霉毒素 B_1 标准品，再次进行检测，计算添加回收率。

1.2.8　试剂盒特异性检测

分别配制玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、伏马毒素、赭曲霉毒素、T-2 毒素标准品，浓度分别为 100、500、1 000、2 000 μg/kg，用黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒检测，考察试剂盒特异性。

1.2.9　试剂盒批内和批间重复性检测

用同批次和 3 个不同批次的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒分别检测黄曲霉毒素 B_1 标准品（浓度分别为 5、10、20、40 μg/kg）浓度，批内每个浓度重复 5 次，批间每个浓度重复 2 次，考察其重复性。

1.2.10　试剂盒稳定性检测

将黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒放置于 45 ℃温箱中，分别于第 0、2、4、6、8 周检测黄曲霉毒素 B_1 标准品（浓度分别为 5、10、20、40 μg/kg）浓度，考察产品的稳定性。

1.2.11　样品检测

随机选取 10 份黄曲霉毒素 B_1 的含量在 2~50 μg/kg 之间的市售的谷物及饲料样品，分别用 HPLC 和本试验制备的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒进行检测，比较检测结果。

1.3　数据统计

试验数据利用 Excel 2007 进行统计分析和标准曲线制作，数据以平均值表示。

2　结果与分析

2.1　胶体金溶液扫描结果

以双蒸水为对照，用紫外分光光度计在 400～700 nm 连续扫描，测定吸收曲线和吸收峰，结果显示，最大吸收峰（λmax）为 527 nm，最大吸光度值（ODmax）为 0.109。所制备的

胶体金溶液颗粒大小在 40 nm 左右，颜色为透明的酒红色，液面无油质类漂浮物，可用于试纸条制备。

2.2　抗体最佳标记 pH

胶体金中加入 5 μL K_2CO_3 溶液调节 pH 时，标记抗体没有死金现象，且显色最强，调节后的胶体金溶液的 pH 在 8.0 左右。

2.3　抗体最佳标记浓度与抗原最佳包被浓度

通过正交试验，确定抗体按 3 μg/mL 标记，T 线偶联抗原按照 0.2 mg/mL 包被，C 线羊抗鼠 IgG 按照 0.1 mg/mL 包被为最佳条件，在此条件下，试纸条检测黄曲霉毒素 B_1 标准品的检测限为 2 μg/kg。

2.4　样品前处理方法的确定

取 1 g 粉碎后的样品，加入 8 mL 样品提取液提取，然后用稀释液稀释 6 倍，加样 100 μL，37 ℃反应 10 min，为最终检测条件。

2.5　标准曲线

通过对一系列不同浓度的黄曲霉毒素 B_1 标准品的检测，确定线性范围及对应的 T/C 值如表 1。以 T/C 值为横坐标、标准品浓度为纵坐标，建立标准曲线如图 1。

表 1　黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度与对应 T/C 值

Table 1　AFB_1 standard concentration and the corresponding T/C value

黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度 AFB_1 standard concentration/（μg/kg）	T/C 值 T/C value					
	第 1 次 First	第 2 次 Second	第 3 次 Third	第 4 次 Fourth	第 5 次 Fifth	平均值 Average value
2	1.02	1.05	1.01	0.92	0.99	0.998
5	0.85	0.75	0.80	0.88	0.77	0.810
10	0.60	0.66	0.60	0.53	0.65	0.608
20	0.35	0.43	0.45	0.37	0.40	0.400
50	0.15	0.17	0.20	0.10	0.15	0.154

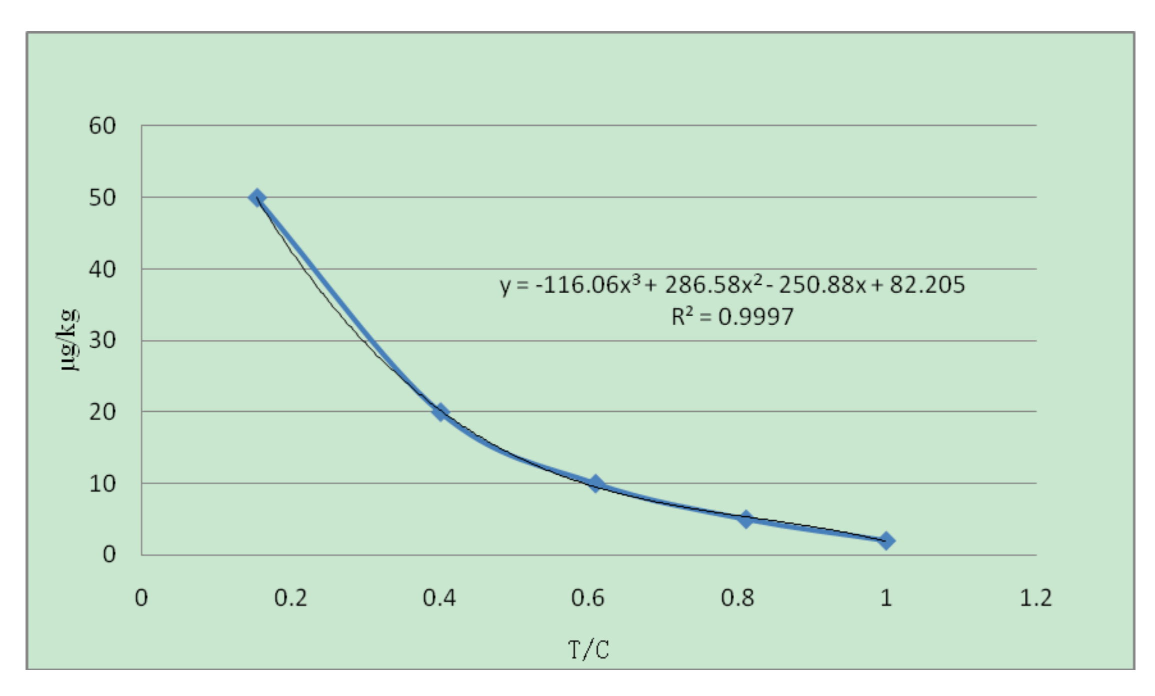


图 1　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒标准曲线

Fig.1　Standard curve of AFB_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit

2.6　添加回收试验结果

分别取玉米和玉米 DDGS 样本，检测其中黄曲霉毒素 B_1 含量，然后分别向其中添加 0、10、20、50 μg/kg 的黄曲霉毒素 B_1 标准品进行检测，计算添加回收率，结果见表 2。玉米样本的添加回收率在 98%~125%之间，玉米 DDGS 样本的添加回收率在 96%~136%之间。

表 2　玉米和玉米 DDGS 样本添加回收试验结果

Table 2　Results of supplementation recovery test of corn and corn DDGS samples

样本 Samples	黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度 AFB_1 standard concentration/（μg/kg）	检测结果 Detection results/（μg/kg）	添加回收率 Supplementation recovery/%
玉米	0	<2	
Corn	10	12.5	125
	20	19.6	98
	50	52.0	104
玉米 DDGS	0	10	

Corn DDGS	10	21.5	115
	20	37.2	136
	50	58.0	96

2.7　试剂盒的特异性结果

由表 3 可知，利用黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒检测不同浓度霉菌毒素标准品，结果均小于 2 μg/kg，说明该试剂盒与玉米赤霉烯酮、呕吐毒素、伏马毒素、赭曲霉毒素、T-2 毒素均无交叉反应。

表 3　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒的特异性结果

Table 3　Results of specificity of AFB_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit　μg/kg

霉菌毒素标准品 Mycotoxin standard	霉菌毒素浓度 Mycotoxin concentration/（μg/kg）			
	100	500	1 000	2 000
玉米赤霉烯酮 Zearalenone	<2	<2	<2	<2
呕吐毒素 Deoxynivalenol	<2	<2	<2	<2
伏马毒素 Fumonisin	<2	<2	<2	<2
赭曲霉毒素 Ochratoxin	<2	<2	<2	<2
T-2 毒素 T-2 toxin	<2	<2	<2	<2

2.8　试剂盒批内和批间重复性结果

用同批次的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒分别检测黄曲霉毒素 B_1 标准品，每个浓度重复检测 5 次，批内重复性结果见表 4。结果表明，黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒的批内变异系数均小于 10%。

表 4　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒批内重复性结果

Table 4　Results of intra repeatability of AFB_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit

黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度 AFB$_1$ standard concentration/（μg/kg）	卡 1 Card 1	卡 2 Card 2	卡 3 Card 3	卡 4 Card 4	卡 5 Card 5	变异系数 CV/%
5	4.8	4.7	5.0	5.2	5.9	9
10	9.6	8.8	9.3	10.0	10.3	6
20	19.5	18.3	20.2	19.8	20.5	4
40	38.5	37.7	39.1	40.2	40.5	3

用 3 个不同批次的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒分别检测黄曲霉毒素 B_1 标准品，每批次每个浓度重复检测 2 次，批间重复性结果见表 5。结果表明，黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒的批间变异系数均小于 10%。

表 5　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒批间重复性结果

Table 5　Results of inter repeatability of AFB$_1$ colloidal gold rapid and quantitative test kit

黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度 AFB$_1$ standard concentration/（μg/kg）	0101 批 Batch 0101		0102 批 Batch 0102		0103 批 Batch 0103		变异系数 CV/%
5	4.8	4.7	5.4	5.3	4.6	4.8	7
10	9.6	8.8	10.9	11.2	9.4	9.1	10
20	19.5	18.3	21.5	22.0	19.2	20.3	7
40	38.5	37.7	42.6	41.9	40.1	39.7	5

2.9　试剂盒稳定性结果

将黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒放置于 45 ℃温箱中，于第 0、2、4、6、8 周检测黄曲霉毒素 B_1 标准品浓度，其稳定性结果见表 6。结果表明，黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒在 45 ℃下保存 8 周其检测结果仍符合要求，变异系数均小于 15%。

表 6　黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒稳定性结果

Table 6　Results of stability of AFB$_1$ colloidal gold rapid and quantitative test kit

黄曲霉毒素 B_1 标准品浓	0 周 0 week	2 周 2 weeks	4 周 4 weeks	6 周 6 weeks	8 周 8 weeks

度 AFB$_1$ standard concentration/（μg/kg）	检测结果 Test result/（μg/kg）	检测结果 Test result/（μg/kg）	变异系数 CV/%	检测结果 Test result/（μg/kg）	变异系数 CV/%	检测结果 Test result/（μg/kg）	变异系数 CV/%	检测结果 Test result/（μg/kg）	变异系数 CV/%
5	5.1	5.3	2	5.0	2	4.3	12	4.2	14
10	9.6	9.7	1	9.1	4	8.5	9	8.7	7
20	19.7	20.7	4	19.5	1	17.7	7	16.8	11
40	39.2	40.8	3	38.2	2	36.6	5	35.2	8

2.10 样品检测结果

利用黄曲霉毒素 B$_1$ 胶体金快速定量检测试剂盒检测 10 份样品，结果见表 7。结果显示，黄曲霉毒素 B$_1$ 胶体金快速定量检测试剂盒的检测结果与 HPLC 检测结果相符，相对误差在 20%以内。

表 7 黄曲霉毒素 B$_1$ 胶体金快速定量检测试剂盒和 HPLC 检测结果

Table 7 Detection results of AFB$_1$ colloidal gold rapid and quantitative test kit and HPLC

样本 Samples	高效液相色谱法检测结果 Detection results of HPLC（μg/kg）	黄曲霉毒素 B$_1$ 胶体金快速定量检测试剂盒检测结果 Detection results of AFB$_1$ rapid and quantitative test kit/（μg/kg）	相对误差 Relative error/%
玉米 1 Corn 1	6.0	5.5	4
玉米 2 Corn 2	10.0	10.4	2
玉米 3 Corn 3	22.0	23.0	2
玉米 4 Corn 4	42.0	45.0	3
玉米 5 Corn 5	27.0	26.5	1
玉米 6 Corn 6	11.5	11.5	0

玉米 7 Corn 7	3.4	4.5	14
玉米 8 Corn 8	25.0	28.5	7
玉米 DDGS Corn DDGS	18.0	16.1	5
猪饲料 Pig feed	17.8	15.8	6

3 讨 论

黄曲霉毒素 B_1 是农产品中最普遍存在的一种霉菌毒素，且其毒性强，可造成养殖动物采食量减少、生产性能下降、免疫力降低等症状，严重的可导致家畜死亡，给养殖业造成巨大损失。同时，如果奶牛摄入含黄曲霉毒素 B_1 的饲粮，经体内代谢后，还会在牛奶中分离出黄曲霉毒素 M_1，影响牛奶质量。因此，世界各国对黄曲霉毒素 B_1 都有严格的限量标准，而在饲料原料及成品中，黄曲霉毒素 B_1 也是必检项目。

目前市场上常用的检测黄曲霉毒素 B_1 的方法有 HPLC、ELISA 及胶体金免疫层析法。本试验研发的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒与现有产品相比，具有以下几点优势。

首先是操作简便快速。HPLC[11]在样本提取后要过免疫亲和层析柱，上机检测样本时平均每个需要 25 min 左右。谢体波等[12]在粮油食品中黄曲霉毒素 B_1 测定试验中使用的市售 ELISA 试剂盒，4 ℃储存，使用前需要复温，样本提取后要在 25 ℃条件下加样反应 45 min。且这 2 种方法都需要专业技术人员操作。本试验研发的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒常温储存，稳定性试验结果表明，45 ℃条件下储存 8 周其变异系数仍小于 15%，相当于常温放置 6 个月。检测时，样本经过简单提取，稀释后直接加样，在 37 ℃孵育器中进行反应，对外界温度没有要求，反应时间只需 10 min，批量检测时所需平均时间更短。

其次是结果准确、重复性好。陈笑笑等[7]研制的黄曲霉毒素 B_1 胶体金试剂板结果判定是根据 T 线与 C 线颜色对比，T 线比 C 线深或一样为阴性，T 线比 C 线浅或无色为阳性，且只能进行定性检测，即通过结果的阴阳性判断样本中霉菌毒素含量是否超出检测线。这种肉眼判读方法在 T 线与 C 线颜色相近时容易产生误差。本试验研发的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒用定量读数仪给出霉菌毒素具体含量，代替肉眼判断的工作，避免人为因素主观判断造成的差异。检测玉米样本的添加回收率在 98%~125%之间，玉米 DDGS 样本的添加回收率在 96%~136%之间。黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒批内和批间

重复性变异系数均小于 10%，检测 10 份样品与 HPLC 检测结果比较相对误差在 20%以内，结果符合度高。

最后是检测成本低。HPLC[11]每个样本要消耗 1 个免疫亲和层析柱，每支价格在 70~150 元之间，液相色谱仪也比较昂贵，因此只有一些大型饲料企业的中心化验室进行此项检测。ELISA[12]在每次检测时都要做标准曲线，即 6 个标准品，因此更适合批量检测，而单个样本检测的成本就比较高。本试验研发的黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒所配定量读数仪内置相应的标准曲线，检测时，不需要再做标准品，因此即使只检测 1 个样本，也不会增加检测成本，适合大部分饲料企业实际使用需求及成本控制。

4 结 论

本试验利用胶体金免疫层析技术，以特异性强的单克隆抗体为基础，研发了黄曲霉毒素 B_1 胶体金快速定量检测试剂盒。该试剂盒稳定性好，与常见的霉菌毒素无交叉反应。同时通过与胶体金定量检测仪结合使用，实现了定量检测，满足快速准确的需求。检测不同种类的谷物和饲料样品，其结果与 HPLC 检测结果有较高的符合率。

参考文献：

[1] MALLMANN C A,DILKIN P.霉菌毒素及猪的霉菌毒素中毒症[M].北京:中国农业大学出版社,2012:22–23.

[2] 杨利国,胡少昶,魏平华,等.酶免疫测定技术[M].南京:南京大学出版社,1998:7–9.

[3] 李军涛,候水平,姬泽薇,等.免疫荧光层析试纸条法检测食用油中的黄曲霉毒素 B_1[J].中国卫生检验杂志,2015,25(7):963–965.

[4] 管笛,亢子佳,贾迪,等.磁性酶联免疫吸附法检测玉米中黄曲霉毒素 B_1[J].食品研究与开发,2016,37(5):101–105.

[5] 许琳,张兆威,李培武,等.量子点探针应用于粮油中黄曲霉毒素免疫检测的研究[J].中国油料作物学报,2015,37(1):119–123.

[6] 张兆威,李培武,张奇,等.农产品中黄曲霉毒素的时间分辨荧光免疫层析快速检测技术研究[J].中国农业科学,2014,47(18):3668–3674.

[7] 陈笑笑,桑丽雅,李康,等.一种快速检测食用油中黄曲霉毒素 B_1 的胶体金试剂板的研制[J].

中国粮油学报,2013,28(7):99–103.

[8] 杜兵耀,马晨,余雄.胶体金免疫层析法检测谷物中的黄曲霉毒素 B_1[J].饲料工业,2016,37(9):58–60.

[9] SHIM W B,KIM G,RYU H J,et al.Development of one-step simultaneous immunochromatographic assay for rapid analysis of aflatoxin B_1 and ochratoxin A[J].Food Science and Biotechnology,2009,18(3):6414648.

[10] ANFOSSI L,D’ARCO G,CALDERARA M,et al.Development of a quantitative lateral flow immunoassay for the detection of aflatoxins in maize[J].Food Additives & Contaminants Part A,2011,28(2):226–234.

[11] 国家卫生和计划生育委员会,国家食品药品监督管理总局.GB 5009.22-2016 食品中黄曲霉毒素 B 族和 G 族的测定[S].北京:中国标准出版社,2017.

[12] 谢体波,刘红,陆苇,等.间接竞争 ELISA 检测试剂盒测定粮油食品中的黄曲霉毒素 B_1[J].食品安全质量检测学报,2015,6(7):2834–2839.

Development of Aflatoxin B_1 Colloidal Gold Rapid and Quantitative Test Kit

SONG Qinglong[1,2] LI Hongcheng[3] FU Wei[1] TANG Hongmei[3] YANG Chunliu[1] QIAO Shiyan[2]

(1. *Beijing Longkefangzhou Bio-Engineering Technoligy Co., Ltd., Beijing* 100193, *China*; 2. *National Feed Engineering Technology Research Center, Beijing* 100193, *China*; 3. *ChongQing Academy of Animal Sciences, Chongqing* 402460, *China*)

Abstract: This experiment was conducted to develop a colloidal gold rapid and quantitative test kit for detected aflatoxin B_1 content in grain and feed by using colloidal gold immunochromatography technology and colloidal gold quantitative test instrument. The kit using colloidal gold-labeled highly specific monoclonal antibody and conjugated-antigen in an orthogonal experiment to find the optimum condition, meanwhile, by compared the color of the control line and the test line, using the colloidal gold quantitative test instrument to detected the aflatoxin B_1 content in samples. The results showed that the aflatoxin B_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit was simple,

rapid and stability, the specific data could be obtained, avoided the differences observed by naked eyes. This kit had no cross reaction with common mycotoxin, the relative error of aflatoxin B_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit detection results and high performance liquid chromatography detection results was less than 20%. In conclusion, this aflatoxin B_1 colloidal gold rapid and quantitative test kit which developed by the experiment can be used for testing the aflatoxin B_1 content in grain and feed rapidly and quantitative.

Key words: aflatoxin B_1; colloidal gold; test paper

Author, SONG Qinglong, E-mail： sql19972002@126.com （责任编辑　武海龙）